

doi: 10.7541/2015.10

葡萄糖、维生素 C 对普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 和 HL 活性的影响

蒋左玉 姚俊杰 熊铧龙 安苗 朱忠胜

(贵州大学动物科学学院水产科学系, 贵阳 550025)

摘要: 通过设置不同浓度的葡萄糖溶液和维生素 C 溶液分别添加到普安银鲫的孵化水体中, 直至卵黄囊消失完全, 探究葡萄糖和维生素 C 溶液分别浸泡对普安银鲫(*Carassius auratus gibelio*)卵黄囊仔鱼发育中脂蛋白脂酶(LPL)和肝脂酶(HL)活性的影响。葡萄糖浓度为 0、5、10、15 和 20 g/L; 维生素 C 浓度为 0、20、25、30 和 35 mg/L, 记录孵化时间、孵化率及仔鱼成活率, 并测定了最适葡萄糖浓度组、维生素 C 浓度组与对照组中普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 和 HL 活性。结果显示: 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中对照组与维生素 C 组 LPL 比活力与全活力呈“下降-上升”的变化趋势, HL 比活力与全活力均呈上升趋势。葡萄糖组 LPL 和 HL 比活力与全活力呈上升趋势, 在混合营养期与外源营养期, LPL 和 HL 比活力与全活力显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而维生素 C 组 LPL 和 HL 比活力与全活力仅稍高于对照组, 但 HL 全活力在内源营养期显著高于对照组 ($P < 0.05$)。研究表明: 适宜水平的葡萄糖溶液可通过调节脂类代谢酶的活性来维持机体内脂质代谢的动态平衡, 同时适宜水平的维生素 C 溶液能促进脂质代谢。

关键词: 普安银鲫; 卵黄囊仔鱼; 脂蛋白脂酶; 肝脂酶; 葡萄糖; 维生素 C

中图分类号: S917.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2015)01-0073-07

卵黄囊仔鱼期是鱼类早期发育中由内源营养向外源营养转化的一个关键时期, 在此期间完全由内源性营养物质供给机体的生理活动, 脂质作为卵黄内主要营养物质之一, 对仔鱼的生长发育与存活具有决定性作用^[1]。维生素 C (Vitamin C, Vc) 是一种具有生理和免疫作用的微量营养素, 对维持鱼类正常生理功能必不可少, 同时具有间接促进脂质代谢的作用, 在饲料中补充维生素 C 可增加脂质代谢和蛋白质的良性循环, 进而改善能量代谢^[2]。同时在虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的研究中也表明, 饲料中添加适宜水平的维生素 C 能促进脂质代谢^[3]。糖作为一种营养素对鱼类生长具有重要作用, 采用 1.5% 的葡萄糖溶液孵化斑马鱼 (*Danio rerio*) 胚胎能提高胚胎孵化率和仔鱼成活率^[4], 表明葡萄糖能影响仔鱼发育过程。饲料中适宜水平糖能促进脂蛋白脂酶

(Lipoprotein Lipase, LPL) 和肝脂酶 (Hepatic Lipase, HL) 的活性, 对吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 幼鱼的研究表明, 当饲料中糖添加水平由 10% 增至 30% 时, HL 活性由 101.51 U/L 升高到 683.15 U/L; 饲料中糖添加水平由 10% 增至 20% 时, LPL 活性由 262.01 U/L 上升到 481.81 U/L^[5], 表明适宜的糖水平能提高脂质分解酶活性来分解利用脂质。

银鲫有雌核发育、杂种发育及孤雌生殖等繁殖方式^[6]。目前, 有关银鲫营养需求的研究主要集中在成鱼和幼鱼, 在蛋白质、脂肪、碳水化合物、某些维生素和无机盐等^[7]的需求量已有较具体的数据, 而对尚未开口摄食的胚胎和仔鱼营养需求的研究相对缺乏。目前, 水产中一般通过饲料添加和水溶液浸泡的方法给鱼类补充营养^[8]。对尚未开口摄食的胚胎及仔鱼, 溶液浸泡法是获取营养素的良好途

收稿日期: 2014-03-01; 修订日期: 2014-06-26

基金项目: 国家自然科学基金(31160527); 贵州省农业科技攻关项目(黔科合 NY2008-3070)资助

作者简介: 蒋左玉(1989—), 女, 贵州盘县人; 硕士研究生; 研究方向为水生动物繁殖与发育生物学。E-mail: gzuzuyjiang@163.com

通信作者: 姚俊杰(1968—), 男, 侗族, 贵州德江人; 博士, 教授, 硕士生导师; 研究方向为水生动物繁殖与发育生物学。E-mail: junjieyao@163.com

径。普安银鲫(*Carassius auratus gibelio*)作为一种天然雌核发育鲫鱼,是在贵州省普安县青山镇一带独特高原环境条件下形成的鲫鱼类型或种群,为贵州特有的鱼类种质资源。由于多方面因素的影响,其自然分布资源逐年锐减,加之自然条件下胚胎孵化率及仔鱼存活率较低。因此,本实验在本课题组对普安银鲫人工繁育及仔稚鱼生长特性等研究的基础上^[9, 10],探究了普安银鲫卵黄囊仔鱼发育过程中与脂质分解代谢密切相关的LPL和HL的活性特征及适宜葡萄糖溶液和维生素C溶液分别浸泡对其活性变化的影响,旨在为有效提高该鱼人工繁育的孵化率、仔鱼存活率及为普安银鲫的资源保护和开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

挑选性腺成熟度好的普安银鲫雌鱼30尾,全长(27.91±1.53) cm, 体质量(446.64±59.36) g; 用体长(35.21±5.74) cm, 体质量(518.14±121.70) g的兴国红鲤(*Cyprinus carpio*)为父本。经过人工催产、干法异源受精后,人工孵化获得。

1.2 实验设计

预实验处理:设置葡萄糖浓度为0、5、10、15和20 g/L进行胚胎孵化实验;维生素C浓度为0、20、25、30和35 mg/L,将受精卵放在90 cm×50 cm×55 cm的水箱内孵化,孵化水体中卵的平均密度为1000粒/L,水温控制在24℃,每8h全部换一次同温度、同浓度葡萄糖和维生素C水。记录孵化时间、孵化率及仔鱼成活率。通过这3个指标综合比较选择最适葡萄糖浓度和维生素C浓度进行正式实验。

正式实验处理:根据预实验结果,设置葡萄糖浓度为0和15 g/L进行实验,维生素C浓度为0和30 mg/L,每个浓度设3个平行组,从受精卵至外源营养期的整个发育过程均处于相同的实验环境。

取样方法:用显微镜和解剖镜连续观察,记录发育时间和发育时期。本实验取样标准为50%的仔鱼发育至某个时期为取样点,仔鱼的内源营养期为1日龄仔鱼,混合营养期为2—3日龄仔鱼,外源营养期为4—5日龄仔鱼^[10]。在内源营养期(1d)、混合营养期(3d)及外源营养期(5d)3个时期分别取样,用于酶活力测定的样本均取样500尾,将样品用滤纸吸干水分后放入1.5 mL的ependoff管中。

样品保存方法:置于冰箱-80℃保存。

1.3 样品制备

取不同发育期的仔鱼样品,加入10倍体积(w/v)预冷重蒸水,在玻璃匀浆器中冰浴匀浆,9000—10000 r/min冷冻离心30min,上层为油层,下层为沉淀,小心取中间层,3000 r/min再次离心后取上清液,置于4℃冰箱保存备用,24h内测定完毕酶的活力。

1.4 酶活性测定方法

酶液蛋白浓度采用考马斯亮蓝法测定。脂蛋白脂酶(LPL)和肝脂酶(HL)活性采用南京建成生物技术有限公司生产的试剂盒测定。

总脂酶活性(TL)=脂蛋白脂酶活性+肝脂酶活性
酶活性分别以酶比活力[即每毫克酶蛋白所具有的活力单位(U/mg protein)]和酶全活力[即每尾鱼酶的总活力(total/U·ind)]。

1.5 数据分析

实验数据用平均值±标准差(Mean±SD)(n=3)表示,采用SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析,用t检验比较分析对照组与葡萄糖组,对照组和维生素C组同一发育时期LPL和HL活性的差异显著性,当P<0.05时为差异显著,P>0.05时为差异不显著。

2 结果

2.1 在葡萄糖和维生素 C 溶液分别浸泡下仔鱼出膜时间、孵化率和仔鱼成活率

随葡萄糖和维生素 C 浓度的增加,仔鱼出膜时间均呈“降低-升高”的变化趋势,孵化率和成活率均呈“升高-降低”的变化趋势(表 1)。在 15 g/L 的葡萄糖溶液中,仔鱼能提前 6.6h 出膜,孵化率和成活率分别高出对照组 12.4%和 13.7%。在 30 mg/L 的维生素 C 溶液中,仔鱼能提前 4.5h 出膜,孵化率和成活率分别高出对照组 15.6%和 17.7%。

2.2 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 活性的变化

普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 比活力与全活力的变化见图 1。在卵黄囊仔鱼发育中,葡萄糖组和维生素 C 组 LPL 的比活力和全活力均高于对照组。对照组与维生素 C 组 LPL 比活力与全活力呈“下降-上升”的变化趋势,而葡萄糖组 LPL 比活力与全活力呈上升趋势。在混合营养期与外源营养期,葡萄糖组 LPL 比活力分别为(0.548±0.040)和(0.576±0.030) U/mg prot, 全活力分别为(0.707±0.013)×10⁻²和(1.030±0.025)×10⁻² U/ind., 对照组 LPL 比活力分别为(0.480±0.011)和(0.524±0.007)U/mg prot, 全活

表 1 葡萄糖、维生素 C 对出膜时间、孵化率和成活率的影响
Tab. 1 Effects of glucose, vitamin C on the membrane time, hatching ratio and survival rate

	对照组 Control group	葡萄糖组 Glucose group (g/L)				维生素 C 组 Vitamin C group (mg/L)			
		5	10	15	20	20	25	30	35
出膜时间 Membrane time (h)	58.1 ^a	56.1 ^b	54.9 ^c	51.5 ^c	53.8 ^d	55.8 ^b	54.1 ^c	53.6 ^c	55.6 ^b
孵化率 Hatching ratio (%)	70. ^a	71.0 ^b	74.2 ^c	83.2 ^e	76.5 ^d	75.1 ^b	81.7 ^d	86.4 ^e	78.3 ^c
成活率 Survival rate (%)	73.4 ^a	77.1 ^b	83.3 ^d	87.1 ^e	79.4 ^c	76.4 ^b	80.5 ^c	91.1 ^e	82.7 ^d

注: 同一行数据标不同字母表示差异显著($P < 0.05$), 相同字母表示差异不显著($P > 0.05$)

Note: Different letter in the row mean significant difference ($P < 0.05$), the same letter in the row mean no significant difference ($P > 0.05$)

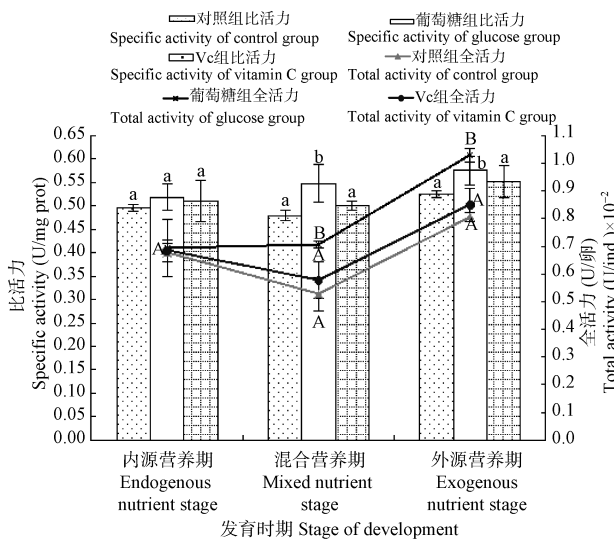


图 1 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育过程中脂蛋白脂酶活性变化

Fig. 1 Variation in specific activity and total activity of lipoprotein lipase during yolk-sac larva development of *C. auratus gibelio*
同一时期柱上标有不同小写字母表示组间同一发育时期有显著差异($P < 0.05$), 相同小写字母表示组间同一发育时期无显著差异($P > 0.05$); 同一时期线图上标有不同大写字母表示组间同一发育时期有显著差异($P < 0.05$), 相同大写字母表示组间同一发育时期无显著差异($P > 0.05$), 下同

Different small letter superscripts mean significant in same periods of difference groups among column diagram ($P < 0.05$), the same small letter superscripts mean no significant in same periods of difference groups among column diagram ($P > 0.05$). Different capital letter superscripts mean significant in same periods of difference groups among line graph ($P < 0.05$), the same capital letter superscripts mean no significant in same periods of difference groups among line graph ($P > 0.05$), the same applies below

力分别为 $(0.527 \pm 0.059) \times 10^{-2}$ 和 $(0.806 \pm 0.015) \times 10^{-2}$ U/ind., 葡萄糖组比活力和全活力均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而维生素 C 组比活力与全活力虽高于对照组, 但差异不显著 ($P > 0.05$).

2.3 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 HL 活性的变化 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 HL 比活力与全活

力的变化见图 2。在卵黄囊仔鱼发育中, 葡萄糖组和维生素 C 组 HL 的比活力和全活力均高于对照组。对照组、葡萄糖组和维生素 C 组 HL 比活力与全活力均呈上升趋势。在混合营养期与外源营养期, 对照组 HL 比活力分别为 (0.591 ± 0.018) 和 (0.665 ± 0.020) U/mg prot, 葡萄糖组分别为 (0.657 ± 0.048) 和 (0.743 ± 0.056) U/mg prot, 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而维生素 C 组在整个发育中与对照组间差异不显著 ($P > 0.05$)。对照组 HL 全活力在整个发育中分别为 $(0.507 \pm 0.030) \times 10^{-2}$ 、 $(0.591 \pm 0.018) \times 10^{-2}$ 和 $(0.731 \pm 0.022) \times 10^{-2}$ U/ind., 葡萄糖组分别为 $(0.728 \pm 0.073) \times 10^{-2}$ 、 $(0.873 \pm 0.078) \times 10^{-2}$ 和 $(0.974 \pm 0.022) \times 10^{-2}$ U/ind., 在整个发育过程中均显著高于对照组, 维生素 C 组在内源营养期为 $(0.621 \pm 0.035) \times 10^{-2}$ U/ind., 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

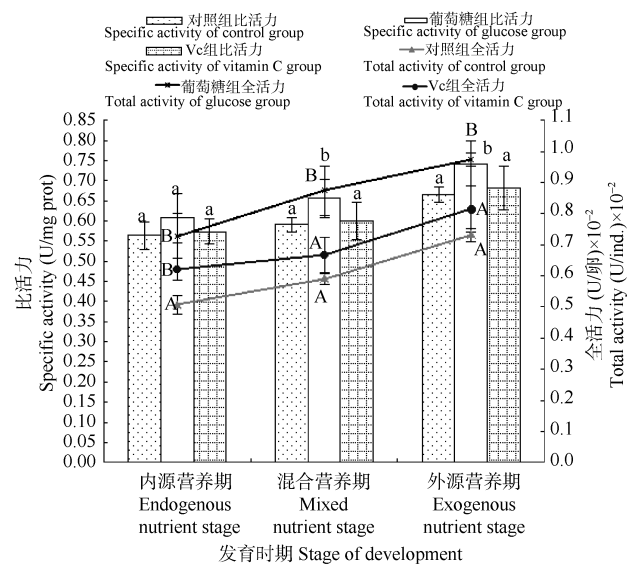


图 2 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育过程中肝脂酶活性变化

Fig. 2 Variation in specific activity and total activity of hepatic lipase during yolk-sac larva development of *C. auratus gibelio*

3 讨论

3.1 普安银鲫卵黄囊仔鱼发育过程中 LPL 和 HL 活性变化特点

脂质是鱼类必需的营养物质,也是主要的能量来源,尤其对仔稚鱼而言,脂肪具有更重要的意义,其消耗与转化直接影响仔鱼的成活率^[11]。LPL和HL(合称总脂酶)是鱼体中参与脂质降解的关键酶,脂蛋白脂酶是脂肪(甘油三酯)水解的限速酶,LPL主要催化乳糜微粒和极低密度脂蛋白中的甘油三酯水解成甘油和脂肪酸,使其转变为小分子质量的脂肪酸,继续氧化为组织提供能量,或再酯化为甘油三酯,储存在脂肪组织中以备机体所用。HL也属于酯酶家族,在分子进化上较为保守,是血液循环中内源性甘油三酯(Triglyceride,TG)代谢有关的酶之一,具有多种脂酶活性,几乎能水解各类脂蛋白中的甘油三酯、甘油二酯、甘油一酯及磷脂。普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中LPL比活力与全活力均呈“下降-上升”的变化趋势,LPL和HL的活性在内源营养期就有较高的活性,这可能与仔鱼体内各大器官形成加快,能耗大有关,此时脂质成为卵黄囊仔鱼发育过程中生长发育的主要能量来源,这也见于其他淡水鱼类的仔鱼发育过程中^[12]。仔鱼在第3天开口摄食后,LPL活力迅速降低,这可能与仔鱼处于混合营养期有很大的关系,由于在该时期仔鱼的摄食器官和消化器官均发育不太完善^[10, 13],摄食能力和消化能力都较弱,不能为LPL提供适宜和充分的底物,且仔鱼一直处于饥饿状态,下调LPL mRNA,从而导致LPL活力的迅速降低,这在朱俊华等^[14]对瓯江彩鲤(*Cyprinus carpio* var. *color*)早期发育中LPL活性变化的研究中得到证实。在5日龄后,由于仔鱼完全转入外源营养阶段^[10],其摄食和消化能力有所加强,外源营养的进入诱导LPL mRNA,使得LPL活性开始缓慢增加^[14]。对瓯江彩鲤的研究表明,在瓯江彩鲤早期发育过程中,HL活性随早期发育的进行其活性呈上升趋势,且由于外源营养的诱导使其活性在仔鱼发育到外源营养期时达到最大值^[14]。本实验结果表明,出膜后的普安银鲫卵黄囊仔鱼HL比活力与全活力均随着发育进行呈升高趋势,这可能与仔鱼的各器官及系统(血液循环系统)不断趋于完善,加之仔鱼开口摄食后外源营养物质进入血液中为HL提供一定量的底物有关^[10, 13],但具体原因还有待进一步

研究。

3.2 葡萄糖对普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 和 HL 活性的影响

磷酸戊糖途径是糖代谢的主要途径之一,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(Glucose 6-phosphatedehydrogenase, G6PDH)通过催化6-磷酸葡萄糖(Glucose-6-phosphate, G-6-P)为脂肪酸的合成提供NADPH^[15]。研究表明,罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[16]、南方鲇(*Silurus meridionalis* Chen)^[17]体内磷酸戊糖途径的代谢速度会随饲料中糖添加量的增加而加快,从而增强脂质的合成作用。同时金鲷(*Sparus aurata*)、河鲈(*Perca fluviatilis*)、沟鲇(*Ictalurus punctatus*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)等鱼类摄食高糖饲料后肝脏G6PDH活性增高,且沟鲇的脂肪酸合成酶活性也增强,说明鱼机体将饲料中糖转化为脂肪的活动增强^[18-20]。在对军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼^[21]的研究结果中发现,饲料中添加适宜水平的葡萄糖对G6PDH活性有促进作用,且对高首鲟(*Acipenser transmontanus*)^[22]的研究结果也显示,适宜水平的葡萄糖处理组中G6PDH和苹果酸酶的活性比对照组高,同样的研究结果在虹鳟^[23]的研究中也得到证实。这些研究表明,葡萄糖能促进鱼体内脂质的合成代谢,从而促进鱼体内脂肪的沉积。而鱼类可调节酶的合成与分泌来形成新的代谢水平,以适应营养条件的改变^[24]。如在吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼饲料中糖添加水平分别为30%和20%时,HL和LPL活性均达到峰值,分别为683.15和481.81 U/L^[5],表明适宜的糖水平能提高脂质分解酶活性来分解利用脂质,以确保机体内脂质代谢的动态平衡。

乙酰辅酶A作为沟通糖类与脂类代谢的重要中间物质,在脂质合成代谢中,乙酰辅酶A是脂肪酸合成的直接原料,主要来自葡萄糖的氧化脱羧^[25]。乙酰辅酶A在乙酰辅酶A羧化酶的催化下生成丙二酸单酰辅酶A后,再由脂肪酸合成酶将乙酰辅酶A、丙二酸单酰辅酶A和NADPH合成脂肪(甘油三酯),而LPL和HL却能将机体合成的甘油三酯分解为小分子物质而为动物体氧化供能。在普安银鲫卵黄囊仔鱼发育过程中,由于仔鱼主要以内源营养为主,且出膜后的仔鱼始终处于饥饿状态,采用适宜浓度的葡萄糖溶液对胚胎及卵黄囊仔鱼进行浸泡,可以提高胚胎孵化率和仔鱼存活率,说明葡萄糖溶液能进入机体为其发育迅速提供能量,这在李俊霞^[4]研究

葡萄糖溶液对斑马鱼胚胎发育的研究中也得到证实。本实验结果表明, 用15 g/L的葡萄糖溶液浸泡后的卵黄囊仔鱼, 与正常组相比, LPL和HL活性升高, 其可能原因为葡萄糖能进入胚胎内为脂肪酸的从头合成提供乙酰辅酶A, 加速合成甘油三酯, 而卵黄囊仔鱼发育过程中是组织构建等生命活动进行的关键时期, 急需大量的LPL和HL来分解这些多余的甘油三酯供能^[26]。因而促进仔鱼体内LPL和HL的分泌, 导致葡萄糖溶液浸泡下的仔鱼体内两种脂酶活性升高, 表明适宜水平的葡萄糖可通过调节脂类代谢酶的活性来维持普安银鲫卵黄囊仔鱼发育过程中仔鱼体内脂质代谢的动态平衡。

3.3 维生素 C 对普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 和 HL 活性的影响

维生素C对鱼类的生长发育、繁殖、抗病及提高仔鱼存活率等方面均有重要作用^[27]。作为鱼类正常生理功能必不可少的微量营养素, 可以清除代谢过程中产生的氧自由基, 保护仔鱼免受氧化损伤。在脂质代谢中, 维生素C可以通过发挥抗氧化功能来阻止多不饱和脂肪酸过氧化, 避免细胞膜遭受氧化损伤, 提高鱼体的免疫力和抗病力^[28]。另外, 维生素C还可通过参与肉碱的合成而间接促进脂质代谢^[2]。肉碱是一种能参与机体能量代谢的多功能生理添加剂, 是转化脂肪生成能量的关键。维生素C缺乏会引起肉碱合成减少, 以致脂肪的 β -氧化减少^[29]。研究表明, 肉碱能促进肌细胞内脂肪酸的 β -氧化供能反应, 进而反馈性增强外周组织的LPL活性^[30]。田娟等^[31]对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的研究结果显示, 在草鱼饲料中添加400 mg/kg肉碱能使LPL活性提高4.48%, 而添加200和400 mg/kg肉碱则使草鱼HL活性分别提高38.6%和36.26%。在中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)饲料中添加100 mg/kg肉碱, 肌肉和脂肪LPL活性较对照组分别提高了27.08%和13.18%^[30]。这些研究表明, 在饲料中添加适宜水平肉碱可促进LPL和HL的活性而使草鱼鱼体脂肪含量降低。

季延滨等^[8]用40 mg/L的维生素C溶液浸泡六须鲶(*Silurus glanis*)卵黄囊仔鱼, 可促进卵黄物质的吸收, 仔鱼开口提前8h, 成活率提高, 说明维生素C能进入卵黄囊仔鱼体内, 诱导与卵黄物质代谢相关的一些消化酶活性, 加速卵黄物质的分解代谢, 以满足自身生长发育的需求。本实验采用30 mg/L

的维生素C溶液浸泡普安银鲫胚胎及卵黄囊仔鱼, 结果表明适宜水平的维生素C溶液能促进普安银鲫胚胎发育, 提高胚胎孵化率及仔鱼存活率, 说明维生素C可降低卵黄囊仔鱼机体的损伤, 提高免疫力, 从而为整个发育过程中正常的代谢提供保障。同时30 mg/L的维生素C溶液浸泡下的普安银鲫卵黄囊仔鱼LPL和HL比活力与全活力的变化趋势与正常组一致, 但这两种脂酶活性均比正常组高, 且LPL和HL活性均高出对照组1倍左右, 说明适宜水平的维生素C进入仔鱼体内能促进脂质的分解代谢。造成这种现象的可能原因有两个: 一是维生素C在脂质代谢中发挥了抗氧化功能, 使维生素E和 β -胡萝卜素处于较高的水平, 阻断脂肪的氧化链, 防止脂肪酸过氧化, 使细胞膜免遭损害, 有利于免疫功能的发挥^[28]。同时机体中积累的大量维生素C提供的自由电子可使氧化型谷胱甘肽转变为还原型谷胱甘肽, 保护酶系统的活性巯基, 提高超氧化物歧化酶的活性^[32], 阻止氧化剂破坏DNA, 保护脂质膜免受过氧化损害。二是维生素C参与普安银鲫卵黄囊仔鱼体内肉碱合成间接促进了脂质代谢^[2], 诱导卵黄囊仔鱼发育中LPL和HL的分泌, 导致维生素C溶液浸泡下的仔鱼体内两种脂酶活性升高, 有利于仔鱼分解利用脂质, 表明适宜水平的维生素C有促进脂质代谢的重要作用。

参考文献:

- [1] Robin J H, Vincent B. Microparticulate diets as first food for gilthead sea bream larval (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation [J]. *Aquaculture*, 2003, 225(1): 463—474
- [2] Xie Z G, Niu C J. The important role and its application of Vitamin C in the study of nutrition and feeds in fish [J]. *Feed China*, 2003, 13: 29—32 [顾志刚, 牛翠娟. 维生素C在鱼类营养与饲料研究中的重要作用及应用. 饲料广角, 2003, 13: 29—32]
- [3] John T M, George J C, Hilton J W, et al. Influence of dietary ascorbic acid on plasma lipid levels in the rainbow trout [J]. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 1978, 49(4): 400—405
- [4] Li J X. Effect of glucose, sucrose and NaCl to embryo development of zebrafish [D]. Thesis for Master of Science. Normal University of Shandong, Shandong. 2007 [李俊霞. 葡萄糖、蔗糖、氯化钠对斑马鱼胚胎发育的影响. 硕士学位论文, 山东师范大学, 山东. 2007]
- [5] Jiang L H, Wu H Y, Huang K, et al. Effects of dietary carbohydrate levels on growth performance and liver

- metabolism functions of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, **37**(9): 1359—1368 [蒋利和, 吴宏玉, 黄凯, 等. 饲料糖水平对吉富罗非鱼幼鱼生长和肝代谢功能的影响. 水产学报, 2013, **37**(9): 1359—1368]
- [6] Gui J F, Zhou L. Genetic basis and breeding application of clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio* [J]. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(4): 409—415
- [7] Ma Z Y, Zhu X M, Xie S Q, et al. Dietary phenylalanine requirement of juvenile gibel carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(5): 1012—1021 [马志英, 朱晓鸣, 解绶启, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料苯丙氨酸需求的研究. 水生生物学报, 2010, **34**(5): 1012—1021]
- [8] Ji Y B, Chen C X, Wang X, et al. Application of vitamin in developing the larvae survival rate of *Silurus glanis* [J]. *China Fisheries*, 2007, **11**: 60—61 [季延滨, 陈成勋, 王祥, 等. 维生素在提高六须鲢育苗成活率中的应用. 中国水产, 2007, **11**: 60—61]
- [9] Liang Z Q, Ma S, Yao J J, et al. The embryonic development of Pu'an crucian carp *Carassius auratus* Linnaeus [J]. *Fisheries Science*, 2012, **31**(6): 316—320 [梁正其, 马珊, 姚俊杰, 等. 普安银鲫胚胎发育的初步研究. 水产科学, 2012, **31**(6): 316—320]
- [10] Liang Z Q, Yao J J, Xiong H L, et al. Preliminary study on the embryonic development of *Carassius auratus* Linnaeus [J]. *Fisheries Science*, 2013, **32**(7): 380—384 [梁正其, 姚俊杰, 熊铎龙, 等. 普安银鲫仔稚鱼的发育及生长研究. 水产科学, 2013, **32**(7): 380—384]
- [11] Keembiyehetty C N, Wilson R P. Effect of water temperature on growth and nutrient utilization of sunshine bass (*Morone chrysops* ♀×*Morone saxatilis* ♂) fed diets containing different energy/protein ratios [J]. *Aquaculture*, 1998, **166**(1): 151—162
- [12] Cejas J R, Almansa E, Jérez S, et al. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, **139**(2): 209—216
- [13] Yao J J, Liang Z Q, Feng Y N, et al. Histological studies on post-embryonic development for digestive system of *Carassius auratus* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2013, **41**(11): 152—155 [姚俊杰, 梁正其, 冯亚楠, 等. 普安银鲫消化系统胚后发育的组织学观察. 贵州农业科学, 2013, **41**(11): 152—155]
- [14] Zhu J H, Yao J J, Feng Y N, et al. Activities of two lipases and effects of m-cresol on them during early development of *Cyprinus carpio* var. *color* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2014, **44**(1): 32—35 [朱俊华, 姚俊杰, 冯亚楠, 等. 甬江彩鲤早期发育中两种脂酶活性及间甲酚对其活性的影响. 淡水渔业, 2014, **44**(1): 32—35]
- [15] Caseras A, Metón I, Fernández F, et al. Glucokinase gene expression is nutritionally regulated in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2000, **1493**(1): 135—141
- [16] Shimeno S, Ming D C, Takeda M. Metabolic response to dietary carbohydrate to lipid ratios in *Oreochromis niloticus* [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1993, **59**(5): 827—833
- [17] Luo Y P, Xie X J. Metabolic adaptation of carnivorous southern catfish to dietary carbohydrate [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, **33**(1): 140—145 [罗毅平, 谢小军. 南方鲇对饲料碳水化合物代谢的适应. 水生生物学报, 2009, **33**(1): 140—145]
- [18] Metón I, Mediavilla D, Caseras A, et al. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis—gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *British Journal of Nutrition*, 1999, **82**(3): 223—232
- [19] Borrebaek B, Christophersen B. Activities of glucose phosphorylation, glucose - 6 - phosphatase and lipogenic enzymes in the liver of perch, *Perca fluviatilis*, after different dietary treatment [J]. *Aquaculture Research*, 2001, **32**(s1): 221—224
- [20] Brauge C, Corraze G, Médale F. Effects of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1995, **111**(1): 117—124
- [21] Cui X J, Zhou Q C, Liang H O, et al. Effects of dietary carbohydrate sources on the growth performance and hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus.) [J]. *Aquaculture Research*, 2010, **42**(1): 99—107
- [22] Hung S S O, Fynn-Aikins F K, Lutes P B, et al. Ability of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different carbohydrate sources [J]. *The Journal of Nutrition*, 1989, **119**: 727—733
- [23] Hung S S O, Storebakken T. Carbohydrate utilization by rainbow trout is affected by feeding strategy [J]. *Journal of Nutrition-baltimore and Springfield then Bethesda*, 1994, **124**(2): 223—223
- [24] Wan J J, Liu B, Ge X P, et al. Effects of dietary vitamin C on the non-specific immunity, three HSPs mRNA expression and disease resistance of juvenile Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(1): 10—18 [万金娟, 刘波, 戈贤平, 等. 日粮中不同水平维生素 C 对团头鲂幼鱼免疫力的影响. 水生生物学报, 2014, **38**(1): 10—18]
- [25] Zou S X. *Animal Biochemistry* (4th edition) [M]. Beijing: China Agriculture Press. 2005, 181—196 [邹思湘. 动物生物化学(4版). 北京: 中国农业出版社. 2005, 181—196]

- [26] Zheng K K, Zhu X M, Han D, *et al.* Effects of dietary lipid level on growth and lipoprotein lipase gene expression in *Pelteobagrus vachelli* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(4): 815—821 [郑珂珂, 朱晓鸣, 韩冬, 等. 饲料脂肪水平对瓦氏黄颡鱼生长及脂蛋白脂酶基因表达的影响. 水生生物学报, 2010, **34**(4): 815—821]
- [27] Lall S P, Lewis-McCrea L M. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish—an overview [J]. *Aquaculture*, 2007, **267**(1): 3—19
- [28] Chien L T, Hwang D F. Effects of thermal stress and vitamin C on lipid peroxidation and fatty acid composition in the liver of thornfish *Terapon jarbua* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, **128**(1): 91—97
- [29] Feller A G, Rudman D. Role of carnitine in human nutrition [J]. *The Journal of Nutrition* (USA), 1988, **118**(5): 541—547
- [30] Zhan X A, Xu Z R. Effects of carnitine on adipose metabolism in Chinese soft-shelled turtles [J]. *Journal of Zhejiang University* (Agriculture. & Life Science), 2002, **28**(1): 70—73 [占秀安, 许梓荣. 肉碱对中华鳖脂肪代谢的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2002, **28**(1): 70—73]
- [31] Tian J, Leng X J, Li X Q, *et al.* Effect of dietary carnitine on growth performance, body composition and lipid metabolism enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2009, **33**(2): 295—302 [田娟, 冷向军, 李小勤, 等. 肉碱对草鱼生长性能、体成分和脂肪代谢酶活性的影响. 水产学报, 2009, **33**(2): 295—302]
- [32] Luo X, Liu Z, Sun Y, *et al.* Lipophilic enhance of Vitamin C protective activity against free-radical-induced damage *in vivo* [J]. *Chemical Research in Chinese Universities*, 2003, **19**(4): 428—431

EFFECTS OF GLUCOSE AND VITAMIN C ON ACTIVITIES OF LIPOPROTEIN LIPASE AND HEPATIC LIPASE DURING YOLK-SAC LARVA DEVELOPMENT OF *CARASSIUS AURATUS GIBELIO*

JIANG Zuo-Yu, YAO Jun-Jie, XIONG Hua-Long, AN Miao and ZHU Zhong-Sheng

(Department of Fisheries Science of College of Animal Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In this study, we investigated how glucose and vitamin C regulated the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase during yolk-sac larva development of *Carassius auratus gibelio* (*C. auratus gibelio*). Glucose solutions and vitamin C solutions at different concentrations were added into the hatching water, and the treatments lasted until the yolk sac disappeared completely. The concentrations of glucose were 0, 5, 10, 15 and 20 g/L, and the concentrations of vitamin C were 0, 20, 25, 30 and 35 mg/L. We recorded the incubation time, the hatching rate and survival rate of larvae, and tested the activities of lipoprotein lipase and hepatic lipase after the treatments with the optimal glucose level, the optimal vitamin C level, and the control. The results showed that the specific activity and total activity of lipoprotein lipase displayed a “down-up” trend in the control group and the vitamin C group, while those of hepatic lipase maintained a pattern of increase during yolk-sac larva development of *C. auratus gibelio*. In the glucose group, the specific activity and total activity of lipoprotein lipase and hepatic lipase were increased and significantly higher than those in the control group during the mixed nutrient stage and exogenous nutrient stage ($P < 0.05$). In the vitamin C group, the specific activity and total activity of lipoprotein lipase and hepatic lipase were only slightly higher than those in the control group, but the total activity of hepatic lipase was significantly higher than that in the control group during the endogenous nutrient stage ($P < 0.05$). Our studies showed that glucose solution (15 g/L) could help regulate lipid metabolic enzyme activity thus maintain the dynamic balance of lipid metabolism, and vitamin C solution (30 mg/L) could improve lipid metabolism.

Key words: *Carassius auratus gibelio*; Yolk-sac larva; Lipoprotein lipase; Hepatic lipase; Glucose; Vitamin C